

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневич

2013г.

Регистрационный № 044-0413



**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ
СУММАРНОГО ПОКАЗАТЕЛЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА
В ПЕДИАТРИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ**

Инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ:

Учреждение образования

«Гродненский государственный медицинский университет»,

Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие

«Институт биохимии биологически активных соединений

Национальной академии наук Беларуси»

АВТОРЫ: к.м.н., доц. Ровбуць Т.И., д.б.н., проф. Мойсеенок А.Г.,

Мойсеенок Е.А., Катковская И.Н., Пеховская Т.А.

Гродно, 2013

Настоящая инструкция по применению (далее – инструкция) разработана с целью объективной оценки состояния окислительного стресса путем определения в крови количества совокупных свободнорадикальных продуктов окисления у детей препубертатного и пубертатного возраста при острой рецидивирующей и хронической патологии, а также подвергающихся воздействию на организм неблагоприятных факторов окружающей среды.

Область применения: педиатрия, гигиена питания, радиационная медицина, медико-лабораторная служба.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ И РЕАКТИВОВ

1. Спектрофотометр, λ – 505 нм.
2. Термостат (водяная баня), температура – 37°C.
3. Пробирки биологические.
4. Пипетки (объем 10, 20, 1000 мкл).
5. ДМФД (100 мМ) – 20,9 мг N,N-диметил-p-фенилендиамина (дигидрохлоридная соль) растворяют в 1,0 мл деионизированной воды. Раствор сохраняет стабильность в темноте в течение месяца (–20°C); 12ч (0°C).
6. Ацетатный буфер (0,1 М, рН = 4,8). Готовится путем растворения 8,16 г ацетата натрия и 2,48 мл ледяной уксусной кислоты в 1000 мл дистиллированной воды и доведением конечного рН до 4,8.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

1. Оценка состояния окислительного стресса при хронической патологии органов дыхания, сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, органов зрения, рецидивирующих респираторных заболеваниях и анемиях у детей в возрасте от 10 до 16 лет.
2. Выявление состояния окислительного стресса у детей в возрасте от 10 до 16 лет, проживающих на территориях радиационного контроля.
3. Мониторинг состояния антиоксидантной защиты с целью исключения недостаточности эссенциальных микронутриентов с антиоксидантными свойствами в питании у детей в возрасте от 10 до 16 лет.

4. Определение показаний к лечебно-профилактическому назначению антиоксидантных лекарственных средств у детей в возрасте от 10 до 16 лет.

5. Контроль проведения антиоксидантной терапии у детей в возрасте от 10 до 16 лет.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Противопоказаний нет.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

I этап – методика забора материала для исследования

Для исследования используется стандартная процедура взятия 0,2 мл капиллярной или венозной крови и получения плазмы (сыворотки).

Допускается хранение образцов при температуре от -20°C до $+4^{\circ}\text{C}$.

II этап – методика определения СПОС

1. В пробирки вносят по 10 мкл образца плазмы (сыворотки) крови.
2. В контрольную пробу вносят 10 мкл дистиллированной воды.
3. Добавляют в исследуемые образцы 2,0 мл ацетатного буфера (0,1 М, рН 4,8) и 20 мкл ДМФД (конечная концентрация 1 мкМ), встряхивают 30 с.
4. Измеряют оптическую плотность (A_1) при длине волны 505 нм.
5. Пробы инкубируют при 37°C в течение 75 мин.
6. Измеряют оптическую плотность (A_2) при длине волны 505 нм.

III этап – обработка и оценка результатов

Величину определяют по формуле:

$$\text{ДМФД-РП [ед./мл]} = (\Delta A_{\text{опыт.}} - \Delta A_{\text{конт.}}) * 1000,$$

где $\Delta A_{\text{опыт.}}$, $\Delta A_{\text{конт.}}$ – разность между значениями оптической плотности ($A_2 - A_1$) для опытной и контрольной проб, соответственно.

Диагностический критерий величины СПОС для здоровых детей в возрасте от 10 до 16 лет, определенный данным методом в сыворотке крови составляет до 550 ед/мл. Превышение значения 550 ед/мл указывает на развитие состояния окислительного стресса в организме обследуемого ребенка.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК

1. Вещества с интенсивностью поглощения излучения в области 505 нм могут потенциально увеличить показатель. По этой причине, гемолизированные образцы крови не допускаются к анализу.

2. Значение окислительного статуса для плазмы немного ниже такового для сыворотки, в зависимости от выбранного антикоагулянта. Плазма, полученная с использованием ЭДТА или цитрата, дает значения на 10% ниже, в то время как плазма с гепарином дает значения наравне с пробами сыворотки.

название

учреждения

здравоохранения

УТВЕРЖДАЮ
Главный врач

И.О.Ф.

201____
МП

А К Т

учета практического использования инструкции по применению

1. Инструкция по применению: **«Метод определения суммарного показателя окислительного стресса в педиатрической практике».**

2. Утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь **04.10.2013 № 044 – 0413.**

3. Кем предложена разработка: *сотрудниками Учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет»: доцентом 1-й кафедры детских болезней Ровбутъ Т.И., ассистентом кафедры общей гигиены и экологии Мойсеёнком Е.А.; сотрудниками лаборатории метаболомики РУП «Института биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси»: главным научным сотрудником Мойсеёнком А.Г., младшим научным сотрудником Катковской И.Н., научным сотрудником Пеховской Т.А.*

4. Материалы инструкции использованы для _____

5. Где внедрено: _____

подразделение и название учреждения здравоохранения

6. Результаты применения метода за период с _____ по _____

общее кол-во наблюдений « _____ »

положительные « _____ »

отрицательные « _____ »

7. Эффективность внедрения (восстановление трудоспособности, снижение заболеваемости, рациональное использование коечного фонда, врачебных кадров и медицинской техники) _____

8. Замечания, предложения: _____

Ответственные за внедрение

должность

подпись

И.О.Ф.

Примечание: акт о внедрении направлять по адресу:

1-я кафедра детских болезней

УО «Гродненский государственный медицинский университет»,

ул. Горького, 80

230009, г. Гродно

название

учреждения

здравоохранения

УТВЕРЖДАЮ
Главный врач

И.О.Ф.

201____
МП

А К Т

учета практического использования инструкции по применению

1. Инструкция по применению: **«Метод определения суммарного показателя окислительного стресса в педиатрической практике».**

2. Утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь **04.10.2013 № 044 – 0413.**

3. Кем предложена разработка: *сотрудниками Учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет»: доцентом 1-й кафедры детских болезней Ровбутъ Т.И., ассистентом кафедры общей гигиены и экологии Мойсеёнком Е.А.; сотрудниками лаборатории метаболомики РУП «Института биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси»: главным научным сотрудником Мойсеёнком А.Г., младшим научным сотрудником Катковской И.Н., научным сотрудником Пеховской Т.А.*

4. Материалы инструкции использованы для _____

5. Где внедрено: _____

_____ подразделение и название учреждения здравоохранения

6. Результаты применения метода за период с _____ по _____

общее кол-во наблюдений « ____ »

положительные « ____ »

отрицательные « ____ »

7. Эффективность внедрения (восстановление трудоспособности, снижение заболеваемости, рациональное использование коечного фонда, врачебных кадров и медицинской техники) _____

8. Замечания, предложения: _____

Ответственные за внедрение

должность

подпись

И.О.Ф.

Примечание: акт о внедрении направлять по адресу:

1-я кафедра детских болезней

УО «Гродненский государственный медицинский университет»,

ул. Горького, 80

230009, г. Гродно

